Aus der Medizinischen Klinik der Universität in Bonn.
(Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. C. Hirsch).

Über experimentelle Gewebezüchtung und ihre Verwertung bei physiologischen und pathologischen Forschungsproblemen.

—

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn.

Vorgelegt von

Hans Baumgartner.
aus Foeni-Fina, Rumänien.

Referent: Geh. Rat Prof. Dr. C. Hirsch.

BONN 1929.

Verein Studentenwohl E. V.

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit!

Inhaltsübersicht.

Aus der Geschichte der Gewebezüchtung.
Anlage einer Gewebekultur.
Das Wachstum der Fragmente.
Beweglichkeit der Zellen.
Das Verhalten verschiedener Gewebe in Explantaten.
Bindegewebe.
Muskel.
Nervengewebe.
Hämopoietische Gewebe und Blutzellen.
Epithelien und Drüsengewebe.
Affrontierte Gewebe.
Muskelphysiologie.
Entzündungen.
Immunitätsforschung.
Die Kultur des filtrablen Virus.
Die Tumorzüchtung.
Zusammenfassung.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die experimentelle Gewebezüchtung und ihre Verwertung bei physiologischen und pathologischen Forschungsproblemen.

Aus der Geschichte der Gewebezüchtung.

Nicht gleichzeitig mit dem Tode erlöschen die Lebensphänomene im Organismus. Auf dieser Tatsache beruht die Erscheinung, daß das isolierte Herz der Vertebraten nach dem Tode des Organismus unter bestimmten Bedingungen die Kontraktionsfähigkeit zurückgewinnt. Diese und andere Beobachtungen sind die ersten wissenschaftlichen Grundlagen, die ersten Anregungen, auf die sich die Methode der experimentellen Gewebezüchtung aufbaute, die jetzt eine selbstständige Wissenschaft geworden ist. Loeb war der erste Forscher, der vor ungefähr dreißig Jahren den Ven Versuch machte, Gewebe in vitro zu züchten. Er nahm ein Gewebestückchen und gab es in ein mit Blut und Lymphe gefülltes Röhrchen. Nach kurzer Zeit sah er, daß das Gewebefragment an Ausdehnung zunahm. Am intensivsten war das Wachstum an der Peripherie. Er konnte dabei auch Zellmitosen beobachten. Seine Beobachtungen dienten späteren Forschern als Anregung. Haberland versuchte die experimentelle Gewebezüchtung auf dem Gebiet der Botanik und bewies, daß die Zellen in geeigneten Flüssigkeiten am Leben zu erhalten sind. Auch findet Zellteilung statt, wenn das isolierte Gewebefragment Leptombündel hat. Die ersten Gewebekulturen legte Harrison von der Yale University an. Es gelang ihm, im Medullarrohr der Froschlarven das Wachstum der

Nervenfasern zu beobachten; als Nährboden diente ihm Lymphe. Burrows ersetzte die Lymphe durch Blutplasma, das jetzt als der beste Nährboden gilt. Obwohl alle diese Forscher verschiedene Wege gingen, erzielten sie ähnliche Resultate.

Mit der Möglichkeit, Gewebe außerhalb des Organismus zu züchten, tauchte spontan die Idee auf, die Foschungsergebnisse im Dienste der medizinischen Wissenschaft zu verwerten. Man versuchte bisher ungelöste Probleme auf diesem neuen Wege zu lösen. Manche Fragen können wir als ganz oder teilweise gelöst betrachten, auf andere grundlegende Probleme wurde ein neues Licht geworfen.

Anlage einer Gewebekultur.

Die langwierige und nur Forschern wichtige Technik der experimentellen Gewebezüchtung will ich nicht ausführlich behandeln, sondern nur die wichtigsten Momente, die zum Verständnis unbedingt notwendig sind, kurz streifen.

Zur Anlage einer Gewebekultur braucht man ein Explantat, ein geeignetes Gewebestückchen, und ein geeignetes Kulturmedium. Sämtliche Gewebearten können wir in vitro züchten. Am besten lassen sich Teile von Haut, Muskel, Leber und Milz züchten, Knochen, Nerven und Knorpel sind weniger geeignet. Als Kulturmedium können wir einen natürlichen oder einen künstlich hergestellten Nährboden nehmen. Die Hauptforderungen sind, daß er einerseits das Wachstum des Gewebes fördert, andererseits den neuentstandenen Zellen durch einen Stützapparat die Bewegung ermöglicht. Das beste Medium ist das koagulierte Blutplasma. Durch das entstehende Fibrinnetz erhält es eine gewisse Festigkeit, die als Stützapparat dient und den Zellen die Wanderung und Proliferation im Koagulum erlaubt. Daß dem aus Fibrin gebildeten Maschenwerk wirklich diese Bedeutung als Stützapparat zukommt, wurde dadurch bewiesen, daß man es durch andere Stützsysteme

ersetzen kann. Zu diesem Zweck gibt man zu den flüssigen Nährmedien Spinnennetz, Seidengaze, Baumwolle, Hollundermark, und die Zellwanderung und das Zellwachstum ist genau so lebhaft wie bei dem aus Fibrin gebauten Stützapparat. Fehlt dagegen ein Stützapparat vollständig, so sind die Lebensbedingungen für die Zellen ungünstiger, und wegen ihrer Unbeweglichkeit gehen sie leicht zugrunde.

Das Blutplasma wird von Tieren durch ein kompliziertes Verfahren gewonnen. Unter den Warmblütlern sind die wichtigsten Spender Maus, Kaninchen, Hund und Huhn. Das Blut wird entweder dem Herzen oder einer Vene entnommen. Die Hauptsache bei diesen komplizierten Manipulationen ist, daß möglichst alles steril geschieht und bei der Entnahme keine fremden Stoffe in das Blut geraten, die die Gerinnung befördern, sonst erhält man statt Blutplasma Blutserum. Außer Blutplasma sind Körperflüssigkeiten und Gewebeextrakte andere gute Nährböden, so der Embrionenextrakt, der auch hormonelle Bestandteile enthält, die dem Gewebe ein unbegrenztes Wachstum verleihen. Neben diesen natürlichen gibt es auch künstliche Kulturmedien, die aber bei den Experimenten nur eine geringe Verwertung haben, da sie nicht so geeignet sind wie die natürlichen Nährsubstanzen. Als künstliche Kulturmedien kommen hauptsächlich Ringerlösung und Tyrodelösung in Betracht. Mit gutem Erfolge versuchte man Gewebezüchtung in gemischten Kulturmedien, die eine Kombination künstlicher und natürlicher Nährmedien darstellen.

Bei Herstellung des Gewebefragmentes muß man auf peinlichste Sterilität achten. Will man das gewonnene Organ oder den Organteil nicht sofort züchten, so muß man es auf Eis legen. Selbst eine längere Abkühlung ist für die Vitalität der Zellen unschädlich.

Wie wird nun eine Kultur hergestellt? Man bringt ein Gewebestückchen von $^1/_2$—1 mm Durchmesser auf ein

Deckglas. Ein Tropfen Blutplasma oder ein anderes Medium wird als Nährmaterial zugegeben. Nach der Koagulation des Blutplasma bildet das Fragment mit dem Medium einen Körper. Jetzt wird das Präparat, das man sorgfältig vor Austrocknung schützen muß, in den Brutschrank gebracht, dessen gleichmäßige Wärme der Kultur die beste Wachstumsmöglichkeit bietet. Schon nach 24 bis 38 Stunden bildet sich um das Fragment herum ein schleierartiger Saum, die Invasionszone, die aus ausgewanderten Proliferationselementen besteht. Von diesen Elementen kann man neue Kulturen, sogenannte Subkulturen herstellen, in denen im Gegensatz zur alten Kultur eine biologische Reinigung möglich ist. Die Herstellung von Subkulturen erfordert keine besonderen Bedingungen. Man schneidet unter Lupenvergrößerung ein Stückchen aus dem Proliferationshof heraus und zwar aus der Zone, welche die gewünschten Elemente rein enthält. Dies neue Stückchen, mit geeignetem Nährmaterial versehen, bildet die biologische Reinkultur.

Durch Explantation kann man die Kulturen ständig vermehren und scheinbar unbegrenzt am Leben erhalten. Die neuen Kulturen scheinen sich sogar mit der Zeit dem Kulturleben besser anzupassen; man beobachtete, daß nach 1300 Passagen die Wachstumsintensität größer war als bei einer neuangelegten Kultur. Um die Zellelemente mit dem nötigen Nährmaterial zu versorgen und die Produkte ihrer katabolischen Prozesse vom Kulturmedium zu entfernen, ist es notwendig, die Kultur alle 24—48 Stunden mit neuer Nährflüssigkeit zu versehen.

Das Wachstum der Fragmente.

Das Wachstum des Fragmentes ist nicht überall gleichmäßig, am intensivsten ist es an der Peripherie. Nur bei ganz jungen Geweben ist das Zentrum intensiv an der Proliferation beteiligt, aber auch nur dann, wenn das Fragment nicht größer als 4 mm ist. Man erklärt diese Erscheinung

dadurch, daß der Stoffwechsel im Zentrum nicht so günstig wie in der Randzone ist. Auch andere biologische Momente, wie Wundreiz und ähnliche Reize können dabei eine Rolle spielen. Wird die Kultur nicht mit Nährflüssigkeit versorgt, so stirbt sie ab. Die regressiven Prozesse beginnen zuerst im Zentrum und schreiten nach der Peripherie vor, die jüngsten Zellelemente sterben zuletzt ab. Zwischen Explantation und Erscheinen von Zellelementen in der Invasionszone liegt eine Latenzzeit, die bei den einzelnen Gewebearten verschieden lang ist; so beginnt die Zellwanderung bei Milzkulturen schon eine halbe Stunde nach Anlegung der Kultur, während die Latenzzeit im allgemeinen 12—14 Stunden dauert. Die Auswanderung erfolgt vom Rande des Fragmentes, der fruchtbaren Zone, aus in das Plasma. Durchschnittlich ist das Explantat nach 24 Stunden von einem breiten Zellsaum umgeben. Die Wachstumsschnelligkeit der Kultur hängt von verschiedenen Faktoren ab, die zum Teil noch unbekannt sind. Fischer behauptet, daß zur Proliferation eine Vereinigung der Zellen in eine Zellgruppe „Syncitium" erforderlich sei, wo jede Zelle Stoffe abgibt, die das Wachstum fördern; diese Substanzen nennt der Autor „Desmonen". Eine erhebliche Rolle bei der Wachstumsschnelligkeit spielen auch die Ionenkonzentrationen und der osmotische Druck. Dies ersieht man daraus, daß das Wachstum in hypotonischen Lösungen aktiver ist als in isotonischen, während hypertonische Lösungen die Zellwanderung bis zur gänzlichen Einstellung hemmen können. Es gibt noch andere Momente, die die Aktivität der Kulturregeln, z. B. Licht, Temperatur; auch biologische Faktoren spielen eine Rolle, so die Plasmabeschaffenheit, das Alter des Tieres, dem man das Blutplasma für den Nährboden entnimmt. Im homogenen Plasma gedeiht die Kultur gut, doch am besten im autogenen Plasma, Die aktivierenden Substanzen stehen zum Alter des Tieres im umgekehrten Verhältnis, die

hemmenden im geraden, d. h. mit dem Vorrücken des Alters werden die aktivierenden Substanzen ständig herabgesetzt, die hemmenden dagegen vermehren sich Schrittweise. Carrel behauptet, daß die wachstumsbeeinflussenden Wirkungen der Gewebeextrakte und Embrionalsäfte diesen aktivierenden und hemmenden Faktoren untergeordnet sind.

Beweglichkeit der Zellen.

Die ersten Aktivitätszeichen einer Kultur äußern sich in dem Erscheinen zarter Fäden längs des Randes, die anfangs noch spärlich sind, dann aber rasch an Zahl zunehmen. Sie dringen nach und nach im Koagulum vor, verdichten sich und ziehen den kernigen Teil des Zellkörpers hinter sich her. Während diese Zellen im Kulturmedium vordringen, erscheinen andere, die den Platz der ersten einnehmen. Dieser Vorgang stellt die Zellwanderung dar. Die erste Vorbedingung zur Zellwanderung ist Festigkeit des Mediums.

Die Richtung wird immer von der Anordnung des Stützapparates in Koagulum bestimmt. Diese Erscheinung bezeichnet man als Stereotypismus, da sie sich beständig wiederholt.

Die protoplasmatischen Bewegungen führen im Allgemeinen schon in den ersten Stunden zur Zellverschiebung. Die Bewegungen werden schon lebhafter, wenn die Zellen in das Medium gelangen.

Es ist interessant, daß Zellelemente, die im Organismus ohne aktive Bewegung sind, in vitro die Beweglichkeit erhalten. Die Frage, ob die Zellen neue Eigenschaften erlangen, oder ob die Fähigkeit zu wandern, die sie im Embrionalstadium besaßen, zurückgewonnen wird, ist noch nicht vollständig geklärt. Die Auffassung der verschiedenen Forscher geht in diesem Punkte auseinander, und wir müssen warten, welche Theorien sich durch weitere Experimente begründen lassen. Der Stützapparat, die Festigkeit des

Kulturmediums, genügt allein nicht zur Erklärung der Zellwanderung. Burrows glaubt, daß die Formveränderung und Wanderung der Zellen Produkte der Oberflächenspannung seien. Nach seiner Auffassung produzieren die Zellelemente eine Substanz „Archusia", welche in schwachen Konzentrationen unwirksam ist, in stärkerer Konzentration dagegen die Zellen zur Nahrungsaufnahme reizt. Diese Reizsubstanz „Archusia" bedingt das Vorhandensein einer anderen Substanz, „Ergusia" genannt, die zur Zellwanderung selbst führt, indem sie die Oberflächenspannung herabsetzt.

Das Wachstum der Gewebekulturen läßt sich berechnen. Man mißt die Größe des ganzen Feldes, zieht die Größe des Stammgewebes ab und erhält so das Ausmaß des absoluten Zuwachses. Um das Wachstum der Proliferationselemente und ihre Wanderung genau zu studieren, machte man Filmaufnahmen, durch die man alle Lebenphänomene der Kultur kontrollieren kann. Die Einzelheiten, die mit dem bloßen Auge nicht wahrnehmbar sind, werden durch die mikrokinematographie festgehalten.

Das Verhalten verschiedener Gewebe in Explantaten.

Wir kommen nun zu den verschiedenen Wachstumstypen der tierischen Gewebe in Explantaten. Obwohl die Lebensäußerungen der verschiedenen Gewebearten im Grunde übereinstimmen, muß man sie doch gesondert betrachten, da jede Gewebeart ihre typische Eigenart bewahrt.

In Explantaten von Bindegeweben sieht man in der Invasionszone ein echtes Reticulumgewebe, das aus spindel- und sternförmigen, durch Verlängerung miteinander verbundenen Zellen besteht. Die Bindegewebeelemente haben eine sehr hohe Proliferationskraft; wenn eine gemischte Kultur keinem Reinigungsverfahren unterworfen wird, überwuchert bald das Bindegewebe die anderen epithelialen und myoblastischen Elemente, sodaß wir nach einigen Passagen eine reine Bindegewebekultur haben. Von Carrel

und Ebeling wird eine Kultur von Fibroblasten schon seit 15 Jahren am Leben erhalten. Diese Kultur stammt von einem embryonalen Hühnerherzfragment und wird alle 48 Stunden in eine neue Kultur übertragen. Ihr Volumen verdoppelt sich regelmäßig jeden zweiten Tag. In den Herzkulturen erscheinen neben Fibroblasten auch Myoblasten, doch muß man die Kultur früh reinigen, sonst werden die Myoblasten von den Fibroblasten überwuchert. Die Form und das Aussehen von Myoblasten in Herzfragmenten hängt von der physikalischen Konstitution des Mediums ab. Wenn das Koagulum dick ist, haben die Myoblasten Sternform mit langen Fortsätzen, ist dagegen das Koagulum dünn, so bilden die Myoblasten fast eine kontinuierliche Membran.

In Sklettmuskelfragmenten aus Hühnerembryonen finden wir in der Proliferationszone Zellelemente, die verschiedene dem Alter des Embryo entsprechende Formen und Eigenschaften haben. Diese Zellelemente unterscheiden sich von den Fibroblasten durch ihre Form, die nicht spindelartig ist, und dadurch, daß sie wie die Myofibrillen einen oder mehrere Kerne enthalten.

In den Kulturen findet eine Emigration von messenchymalen Zellelementen statt, die ein Substrat für die Muskelzellen bilden. Die mesenchymalen Zellen sind von großer Bedeutung, denn wenn diese Elemente fehlen, wie es bei älteren Fragmenten der Fall ist, wird ein Entdifferenzierungsprozeß entstehen. Die Myoblasten, die länglich an der Oberfläche verbreitert sind, werden frei; sie werden fragmentiert und sinuös; ihr Aussehen gleicht den Chondriokonten. Sind dagegen Bindegewebezellen anwesend, so wird der Differenzierungsgrad weiter bewahrt.

Das Verhalten der glatten Muskelzellen hängt von ihrem Ursprung ab, wie manche Autoren behaupten. Champy, der die Faserzellen von glatten Muskeln der kleinen Gefäße studierte, fand, daß bei Erwachsenen die

Faserzellen von den Bindegewebszellen nicht zu unterscheiden sind. Lewis beschäftigte sich mit dem Verhalten der glatten Muskelzellen in den Amnionkulturen von Hühnerembryonen. Er beobachtete, daß die Zellen, die wie Fibroblasten durch Fortsätze miteinander verbunden waren, verschieden dichte Netze bildeten. Die Struktur der Zellen hing ab vom Differenzierungsgrad. Wenn die Zellen differenziert waren, zeigten sie klare Myofibrillen; waren sie dagegen entdifferenziert, so verloren sie ihren spezifischen Charakter. Ihr Cytoplasma wurde klar, die Chondriokonten wurden zerstreut und sinuös. Die Zellen vermehrten sich durch Mitose. Lewis sah auch Zellkontraktionen während der Mitose.

Das Nervengewebe wurde von mehreren Forschern ausführlich studiert, besonders von Harrison, Burrows, Matsumoto, Marinesco und Minea. In den Kulturen kann man keine Vermehrung von Neuroblasten sehen. Es werden lange Fäden ausgesandt, die sich als echte Nervenfasern erweisen. Die Fasern können nur mit Hilfe des Fibrin, das ihnen als Stützapparat gegeben ist, progredieren. Nach den Beobachtungen von Marinesco und Minea suchen die neugebildeten Fasern einen genügend soliden Boden, der auch aus mesenchymalen Elementen bestehen kann. An diesen Zellen stützen sich die Fasern und wandern an ihnen entlang. Haben die Fasern keinen soliden Stützapparat zur Verfügung, so stellen sie die Progression ein, oder sie ziehen sogar ihre Fortsätze zurück, wie interessante Beobachtungen uns zeigen. Die Progressionsgeschwindigkeit wurde von Harrison gemessen, er fand, daß sie fünfzig Mikron pro Stunde beträgt. Burrows konnte in Nervenkulturen von Hühnerembryonen eine noch größere Progressionsgeschwindigkeit — nähmlich 90 Mikron pro Stunde — beobachten. Die Nervenfasern verhalten sich nach Ingebrigtsen in vitro wie in vivo. Mit der Trennung der Fasern von ihrer Zelle tritt eine Degeneration

ein, doch kann der zentrale Stumpf sich auch in vitro regenieren. Die Degeneration besteht nach Marinesco und Minea die die Walleriana-Degeneration der Nerven von Kaninchen studierten, aus Zerfall des Myelins und der Zylinderachse; andererseits tritt eine progressive Reaktion von Bindegewebselementen und der Schwannschen Scheide ein. Durch die experimentelle Züchtung wurden auch wichtige Resultate in der Histogenese der Nerven erzielt. Besonders Held und Heuser haben auf diesem Gebiet wertvolle Arbeit geleistet.

Haemopoietische Gewebe und Blutzellen.

Milzkulturen wurden schon ziemlich früh angelegt, da die Milz sich in vitro gut züchten läßt. Doch wurden die Kulturen nur in morphologischer Hinsicht studiert. In der letzten Zeit, als die Lösung einer der schwierigsten Fragen, nämlich des Problems des Histogenese der Blutzelfen, auf anderen Wegen nicht lösbar zu sein schien, widmeten die Forscher der experimentellen Züchtung der Milzkulturen größere Aufmerksamkeit. Schon die ersten Beobachtungen deuteten auf die hervorragende Wichtigkeit auf dem Gebiet der Histogenese hin, sodaß die Milzkulturen seitdem fast von allen namhaften Forschern ausführlich studiert wurden. Carrel und Ebeling legten die ersten Milzkulturen an. Sie fanden schon in den ersten Stunden eine lebhafte Emigration von Zellelementen; nach 34 Stunden war im Plasma eine große Zahl roter und weißer Blutkörperchen, die sich amoeboid bewegten. Während des zweiten Tages vermehrten sich die Leukocyten so stark, daß sie das ganze Kulturmedium einnahmen. Auch große mit Pseudopodien versehenen Zellen fanden sich zahlreich unter den Leukocyten, die eine große phagocytäre Kraft zeigten. Außerdem wurden noch andere Zellen in der Invasionszone gefunden; Lymphozyten, Granulozyten und Monozyten. Mit dem Erscheinen von

Limphozyten in den Kulturen wurde die Frage über den Ursprung dieser Zellen heiß umstritten. Gegenüber der früheren Auffassung von Forschern wie Arnold, Baumgarten und Lejen, daß die Lymphozyten des Exudats haematogenen Ursprung haben, wurde aus den Gewebezüchtungen Maximows bewiesen, daß die Lymphozyten von atypischen Proliferationen normaler Bindegewebe stammen. Fischer beobachtete die Umwandlung von Fibroblasten in weiße Blutkörperchen. Dies scheint ein reversibler Vorgang zu sein, da es anderen Forschern gelang, aus weißen Blutkörperchen Fibroblasten zu erhalten, die dann unbegrenzt weiter gezüchtet werden konnten.

Maximow züchtete lymphatisches Gewebe. Er sah eine lebhafte Wanderung der Zellelemente, die in drei verschiedenen Formen auftraten, und die mit den Zellformen der Milzkulturen große Ähnlichkeit aufwiesen. Die Proliferationsintensität der Zellen nahm durch weitere Passagen ab, nur die Bindegewebezellen zeigten intensives Wachstum. Maximow setzte Knochenmarkextrakt zu, und nun zeigten auch andere Elemente wieder lebhafte Proliferation; die Zellen bewegten sich amoeboid und zeigten nicht geringe Phagozytose.

Sebastiani züchtete in verschiedenen Kulturmedien Fragmente aus leukämischen Lymphdrüsen, um zu untersuchen, ob nicht Substanzen zu finden seien, myelolymphadenoide Gewebe zur Hyperplasie anzureizen. Er fand im Verhalten zwischen normalen und leukämischem Plasma keinen Unterschied; nur entdeckte er, daß das Plasma syphilitischer Organismen auf das Wachstum eine hemmende Wirkung ausübt.

Die Züchgung des Knochenmarkes versuchten als erste Carrel und Burrows, und zwar nahmen sie Mark von jungen Katzen. Nach 24 Stunden sahen sie einen großen Hof von roten und weißen Blutkörperchen, die sich sehr lebhaft bewegten; am zweiten Tag traten

spindelförmige und längliche Zellen hinzu mit sehr aktiven Pseudopodien, auch polymorphkernige Leukozyten waren anwesend, die — wie Erdmann ebenfalls bestätigte, — ihre Kerne verloren und sich in kleinere Formen umwandelten. Herwerden züchtete Knochenmark und wollte auf diesem Wege die Entstehung der roten Blutkörperchen studieren. Er konnte beobachten, wie die Normoplasten ihre Kerne auswarfen. Tower, Harms und Erdmann haben ähnliche Beobachtungen gemacht; auch ihnen gelang es zu sehen, wie die kernhaltigen Zellen sich in kernlose verwandelten.

Epithelien- und Drüsengewebe.

Bei Hautexplantaten zeigt sich in kurzer Zeit ein kollossales Wachstum von Zellelementen, die in der Hauptsache aus Epithelien bestehen. Das Bindegewebe nimmt an der Proliferation keinen Anteil, sondern nur die Epithelien wachsen und hier auch nur die Zellen der Basalzone, die obere und mittlere Zone sind nicht daran beteiligt. Die Epithelien vermehren sich mitotisch und amitotisch. Ein interessantes Phänomen konnte Ruth beobachten, nämlich die Wundvernarbung. Er machte an einem Präparat eine Kontinuitätstrennung; nun sah er, wie das Epithel anfing zu proliferieren. Die Zellen wanderten an dem Wundrand entlang und nach 10 Stunden war der klaffende Raum ausgefüllt.

Lebergewebe wurde von mehreren Forschern gezüchtet. Ihre Beobachtungen stimmen im Grund genommen überein. Linch legte Kulturen aus embryonalem Lebergewebe an. Er fand in der Invasionszone eine Membrane aus Epithelien. Die Zellen waren polygonal. Verloren sie ihre Verbindung mit der Membran, so fielen sie schnell regressiven Prozessen anheim; sie wechselten Struktur und Form, besonders die periphären Zellen. Bei Fragmenten aus einem älteren Gewebe sah man in der Proliferations-

zone neben Leberzellen noch Bindegewebselemente. Mitsuda stellte außer den Leberzellen epitheliale Elemente der Gallenkanälchen und endotheliale Zellen fest. Nach Levis Beobachtungen können die Leberzellen Erwachsener ihren spezifischen Charakter behalten.

Erst vor wenigen Jahren wurde zuerst von Carrell Nierengewebe gezüchtet. Er fand in der Invasionszone Spindelzellen und tubuläre Formationen, die von ihm als Teile von Nierenkanälchen angesehen wurden. Nach Champy's Behauptung kehrt das proliferierende Gewebe in einen primitiven Zustand zurück, legt also in umgekehrter Richtung den Weg zurück, den es während der Ontogenese gemacht hat. Die bisher niedrige Proliferationskraft wächst mit dem Entdifferenzierungsprozeß. Diese Auffassung Champy's wird nicht von vielen Autoren geteilt; manche behaupten, daß dieser Entdifferenzierungsprozeß kein konstantes Symptom sei. Nach Carrel und Burrows wird der Entdifferenzierungsprozeß von verschiedenen Faktoren so beeinflußt, daß die Zellen ihr Differenzierungsvermögen zurückerhalten. Drew behauptet, daß das Vorhandensein von Bindegewebe auf die Entwicklung der Nierenkanälchen entdifferenzierend wirkt. Er sah auch tubuläre Bindungen, die während des Wachstums sich fragmentierten und das Plasma verflüssigten, trotzdem sie keine mesenchymale Grundlage hatten. Die negativ blastotropische Wirkung der Nebennierenrinde kommt auch bei anderen Organteilen zur Geltung. z. B. beim Muskel.

Auch die Züchtung der Schilddrüse in vitro wurde zuerst von Carrel und Burrows unternommen. Sie nahmen Schilddrüsengewebe des Hundes und versuchten Subkulturen zu gewinnen. Es gelang ihnen, drei Generationen hindurch das Schilddrüsengewebe in vitro am Leben zu erhalten. Die Proliferation war sehr lebhaft, und in der Invasionszone sahen die Forscher Zellelemente,

die spindelförmig aussahen und wahrscheinlich Fibroblasten waren. Auch polygonale Zellen epithelialer Natur waren zahlreich zu finden, die von einer ziemlich starken Randzone begrenzt waren. Die Zellen wuchsen kontinuierlich in breiten Quasten in das Koagulum. Amerikanische Forscher sahen tubuläre Bildungen, die mit epithelialen Zellen ausgekleidet waren.

Champy hat etwas später die Schilddrüsengewebe in vitro studiert. Er beobachtete, daß die Bläschen ihre kolloidale Substanz verloren und in den Zellen cytoplasmatische Veränderungen auftraten. Dies geschah folgendermaßen: Die Zellen wuchsen und schwollen zu beträchtlicher Größe an, sodaß die Bläschen ganz gefüllt aussahen; die Sekretkörnchen verschwanden langsam, und an ihrer Stelle erschienen Tropfen, die vermutlich aus Fett bestanden. Das Bindegewebe zeigte eine beschränkte Proliferationsaktivität; wahrscheinlich wirkte das Epithel hemmend auf sein Wachstum. Am zweiten und dritten Tage sah man lebhafte Mitosen der Zellelemente, die, sich auf diese Weise vermehrend, mehrere Schichten bildeten. Die Epithelzellen enthielten nie kollodiale Substanzen. Mit diesen Beobachtungen will Champy seine Behauptung begründen, daß die Schilddrüsenzellen in vitro entdifferenziert werden und dadurch ihren spezifischen Charakter und ihre Funktion verlieren.

Ebeling versuchte Reinkulturen von endokrinen Drüsen zu erhalten. Er züchtete Schilddrüse von 18 Tage alten Hühnerembryonen, doch entfernte er vorher die Bindegewebehülle der Drüsen. Er beobachtete, wie die epithelialen Zellen sich in das Koagulum vorwärtsdrängten oder an der Oberfläche einen dünnen Schleier bildend sich ausbreiteten. Es gelang ihm, durch mehrere Passagen hindurch Reinkulturen von differenzierten epithelialen Zellen zu bekommen, die den Charakter der differenzierten Schilddrüsenzellen zeigten und mit kolloidähnlichen For-

mationen gefüllt waren. Die Zellen bewahrten zwei Jahre lang ihre Differenzierung und Funktionsaktivität. Diese schönen Ergebnisse Ebelings stehen diametral entgegengesetzt zu Champy's Behauptung; sie beweisen, daß die in der Schilddrüsenkultur entstandenen Zellen in vitro längere Zeit ihren spezifischen Charakter bewahren. Die späteren Versuche Ebelings brachten ähnliche Resultate. Daß die Schilddrüsenzellen ihre spezifische Funktion beibehalten, bewies er durch folgendes Experiment: Er nahm Epithelzellen aus einer Schilddrüsenkultur und setzte sie zu einer Fibroblastenkultur. Da wurde das Wachstum der Fibroblasten genau so aktiviert wie durch Schilddrüsenextrakte. — Diese Resultate geben uns die Möglichkeit, Hormone endokriner Drüsen in reinem Zustand zu gewinnen. Dies erreicht man, indem man die Sekretionsprodukte sich in vitro speichern läßt.

Goldschmidt züchtete Geschlechtsdrüsen von der Schmetterlingspuppe Sania cekropia. Als Nährboden nahm er die Blutflüssigkeit der Puppe. Er konnte in vitro alle Stadien der Spermatogenese verfolgen. Drei Wochen lang sah er eine lebhafte Aktivität der Zellen, die nachher abstarben.

Champy versuchte seine Behauptung — daß die Explantationselemente in vitro einem Entdifferenzierungsprozeß entgegengehen — durch mehrere Experimente zu beweisen. Es züchtete Hodenfragmente von Kaninchen in homogenem uud heterogenem Plasma. Er sah, daß bei embryonalen Hodenfragmenten, wo die Zellen noch nicht differenziert waren, die Zellen wenig Veränderung erfuhren. Doch das Fragment erwachsener Hoden, wo schon eine völlige Differenzierung der Zellen stattgefunden hatte, machte bald einen Entdifferenzierungsprozeß durch. Das geschah folgendermaßen: Die Spermatozoiden und die übrigen Zellelemente wandelten sich um und nahmen langsam das embryonale Zellbild an. Die Vermehrung

erfolgte durch Mitose. Auch lebhafte Phagozytose wurde beobachtet, wobei durch Agglutination entstandene Riesenzellen von den Phagozyten verschiedenen Ursprungs angegriffen wurden. Champy behauptet, daß das heterogene Plasma auf die Hodenkulturen eine schädigende Wirkung ausübe und dadurch der Degenerationsprozeß der Zellen früher eintrete. Mit diesen Tatsachen versucht Champy die Sterilität der Hybriden zu erklären, bei denen die Spermatogenese in einem — man könnte sagen — fremden Medium stattfindet. Es wäre anzunehmen, daß die Keimzellen in einem bestimmten Entwicklungsstadium vom Organismus irgendeine Substanz erhalten müssen, die für sie spezifisch ist. — Die Entdifferenzierungsprozesse beobachtete Champy auch in Kulturen des Ovariums. In diesen Kulturen erhielten die germinativen Ovarienzellen durch Degenerationsprozesse das Aussehen der undifferenzierten Epithelzellen. Maccabruni, Zondek und Wolf sahen in Kulturen menschlicher Ovarien eine lebhafte Proliferation der Stromazellen und des Keimepithels. Nach den Beobachtungen der letztgenannten Forscher ist das Alter bei den Züchtungen in vitro ohne hemmende Wirkung auf die Wachstumsfähigkeit des Ovariums.

Sie beobachteten in der Ovarienkultur einer 45jährigen Frau eine große Wachstumsaktivität und behaupten, daß kein Entdifferenzierungsprozeß eintrat. — Es wurden auch Versuche mit Placentagewebe gemacht. Fornero berichtet, daß es ihm gelungen ist, in Kulturen von Meerschweinchenplacenta, die er längere Zeit mittels Verjüngung am Leben hielt, das Gewebe zu einer echten organoplastischen Periode zurückzuführen, wobei auch neue Zellen entstanden sind. Wenn diese Beobachtungen Forneros auch von anderen Forschern bestätigt werden, so ruft dies eine Revolution in der ganzen Entwicklungsforschung hervor und hat für die Wissenschaft ungeheure Bedeutung.

Affrontierte Gewebe.

Wir sahen bisher die einzelnen Fragmente in ihren Lebensäußerungen, wir sahen, wie sie wachsen und wie mit den regressiven Prozessen der Tod eintritt. Wir betrachten jetzt den Einfluß der einzelnen Gewebe aufeinander beim Affrontieren, Wenn zwei Gewebe einander gegenübergestellt werden, so wirken sie zuweilen aufeinander wachstumsfördernd oder wachstumshemmend, und zwar kommt es darauf an, welche Arten von Geweben man einander gegenüberstellt. Zu diesem Zweck untersuchte man die verschiedensten Organe; man nahm zwei Stücke verschiedener Organe und affrontierte sie, oder man nahm ein einziges Fragment, das man hufeisenförmig bog. Bei letzterem bemerkte man, daß sich an den beiden Polen lebhafte Proliferation zeigte. Die neugebildeten Zellen wuchsen sich zungen- oder pinselförmig entgegen und suchten das hufeisenförmige Fragment zum Ring zu schließen. An der ganzen konkaven Seite sah man ähnlich lebhafte Proliferation, und allmählich wurde der ganze Zwischenraum ausgefüllt. Die Zellen an der konvexen Seite wuchsen viel langsamer, trotzdem sie doch mit Nährmaterial besser versorgt waren.

Fischer und Olivo affrontierten Herzfragmente, und sie beobachteten an den proximalen Polen eine lebhafte Proliferation, die zwischen den beiden Fragmenten eine narbenartige Brücke bildete, während sich an den distalen Polen kaum Wachstum bemerkbar machte. Dadurch wurde die Behauptung Fischers und Olivos bestätigt, daß homologe Zellelemente tropischen Reiz aufeinander ausüben. Dabei bezeichnet man die Beweglichkeit mit dem Wort „Cytotropismus", die Orientierung mit „Blastotropismus", doch sind beide Begriffe kaum voneinander zu trennen.

Während Fischer gleichartige Organe gegenüber stellte, versuchte Centani heterologe Fragmente zu affron-

tieren. Er stellte den Nerv der Niere, Nebenniere, Pankreas, Leber, Milz und Muskel gegenüber und beobachtete bei Leber, Niere und Milz eine positiv blastotropische Relation. Das der Nebenniere affrontierte Nervfragment verhielt sich jedoch anders. Hier erfolgte die Hauptproliferation am distalen Pol; Die Entwicklungsintensität am proximalen Pol war geringer: entstand an diesem Abschnitt ein Zuwachs, so bogen die neugebildeten Elemente — wie von einem Windstoß getroffen — zum distalen Pol um. Der Einfluß der Nebennierenrinde auf den Nerven ist also negativ blastotropisch. Setzte man dem Nerven in einem Kapillarröhrchen Adrenalin gegenüber, so zeigte sich dieselbe Wirkung. Damit wurde bewiesen, daß der blastotropische Effekt von hormonellen Elementen abhängt. Die negativ blastotropische Wirkung der Nebennierenrinde kommt auch bei anderen Organteilen zur Geltung, z. B. beim Muskel. — Lewis will den Blastotropismus zweier Nervenfragmente als Ursache der Anastamosis ansehen. Er beobachtete, wie zwischen zwei parallel liegenden Fasern des Rhombenzephalon aus einem drei Tage alten Hühnerembryo feine Faserbrücken entstanden, die fibrillären Charakter zeigten. Ein dem positiven Blastotropismus ähnliches Phänomen stellen die Wundreize dar, die nach Virchow bei der Proliferation der Gefäße als Stimulans dienen und die Nervenbildung beschleunigen. Von Ehrlich wurde ein angioblastischer Stimulus angenommen. Er sah bei vielen Tumorarten ein überreichliches Gefäßnetz entstehen mit Caput medusae-ähnlichem Aussehen, das den Kulturen ein dunkles Aussehen verlieh. Carrel versuchte auch Drüsen mit innerer Sekretion zu affrontieren.

Schilddrüse der Leber gegenübergestellt, zeigt positiv frontale Polarität; auf die Milz übt die Schilddrüse einen negativ blastotropischen Einfluß aus.

Schilddrüse der Nebenniere affrontiert, zeigt gegenseitige positiv blastotropische Relation.

Affrontiert man die Nebenniere der Leber, so hemmt die Nebenniere die Proliferation des Leberfragmentes.

Beim Affrontieren von Nebenniere und Testikel zeigte erstere starke Proliferation, während letzterer unbeeinflußt bleibt.

Niere mit Testikel affrontiert zeigt lebhafteren Blastotropismus als beim Affrontieren mit anderen Organen.

Die Leber wirkt auf den Testikel stark positiv blastotropisch; besonders das Wachstum der Kanälchen wird gefördert, das Bindegewebe bleibt unbeeinflußt. — Aus den erwähnten Versuchen ersehen wir, daß affrontierte Gewebearten einander negativ oder positiv blastotropisch beeinflussen können.

Carra versuchte Tumorgewebe mit gesunden Gewebearten zu affrontieren. Er machte dabei wichtige Beobachtungen für die Pathologie und Biologie. Er setzte Mäuseadenocarcinom normalen Organteilen: Milz, Leber, Schilddrüse, Nebenniere gegenüber. Dabei stellte er fest, daß die Milz sehr hemmend auf die Tumorentwicklung wirkt. Auch autolytische Prozesse traten an der frontalen Seite des Tumorgewebes auf. Ähnliche Wirkung auf das Tumorwachstum zeigte der Testikel.

Fornero beschäftigte sich mit den tropischen Verhältnissen des genito-endokrinen Systems; er wollte die intraglanduläre Korrelation und die dadurch bedingte Entwicklungspolarität studieren. Nach seinen Feststellungen besteht zwischen formativer und sekretorischer Aktivität ein völliger Synergismus, und die Resultate in vivo und in vitro stimmen in der Hauptsache überein. Mit seinen Experimenten bewies er, daß während der Schwangerschaft ein Hyperthyreoidismus besteht und eine allmähliche Regeneration der hormonopoietischen Gewebe stattfindet. Diese Erscheinungen beruhen auf einer intra-glandulären Interferenz zwischen beiden glandulären Systemen.

Muskelphysiologie.

Wir sprachen bisher über die Morphologie und Histologie der Kulturen in vitro, jetzt wollen wir kurz die physiologischen Lebensphänomene, die sich in den Kulturen abspielen, betrachten. Als erster beschäftigte sich Bottagi mit muskelphysiologischen Studien. Auf Grund seiner Beobachtungen behauptet er, daß die Kontraktibilität des Protoplasma schon in einem sehr frühen Entwicklungsstadium vorhanden ist, wenn noch keine echten Myofibrillen aus dem Chondrium entstanden sind. Andere Autoren wie Engelmann, Weiß, Hooker und Vles sind anderer Meinung. Nach ihrer Ansicht ist die Kontraktibilität nur bei differenzierten Myofibrillen vorhanden. Burrows sah rhythmische Kontraktionen an Herzfragmenten,wobei nicht nur die Zellsyncitien, sondern auch die isolierten Einzelzellen eine lebhafte Kontraktion zeigten. Lewis sah ebenfalls rhythmische Formveränderungen; er zählte pro Minute 115 Kontraktionen.

Nach Olivo sind die Zellkontraktionen echte Pulsationen. Die Kontraktionen treten anfangs nur spärlich und auf einem kleinen Gebiet auf. Bald nimmt das ganze Fragment an der Pulsation teil, und die Zahl der Kontraktionen wächst mit der Zeit und der Ausbreitung. Der Rhythmus kann durch elektrische Reize beschleunigt werden. Olivo affrontierte heterogene Herzfragmente, wobei jedes Fragment einen anderen Kontraktionsrhythmus hatte. Durch das Zusammenwachsen beider Fragmente entstand ein synchroner Kontraktionsrhythmus. Olivo trennte später die beiden Fragmente und beobachtete nun, daß die beiden Fragmente wieder ungleichen Kontraktionsrhytmus annahmen. Krontowsky versuchte den Kontraktionsrhythmus durch die Temperatur zu beeinflußen. Er nahm zwei verschieden große Fragmente, deren Kontraktionen

fast gleich schnell waren. Er verband die beiden Fragmente durch eine Zellbrücke. Die Pulisation war bei 39 Grad trotz Anastomose verschieden. Bei höherer Temperatur wurden die Kontraktionen bei beiden Fragmenten unregelmäßiger und langsamer. Bei Senken der Temperatur auf 39 Grad war der Kontraktionsrhythmus des kleineren Fragmentes doppelt so schnell wie der des größeren Fragmentes. Krontowsky erniedrigte nun die Temperatur unter 39 Grad und sah, daß das kleine Fragment das große überlebte und noch lange Kontraktionen zeigte.

Entzündungen.

Die Gewebezüchtung in vitro wurde auch zu den Studien der Entzündungsprozesse benutzt. Die Ergebnisse, die auf diesem Wege erzielt wurden, sind sehr wichtig. Die Gräwitz'sche Schule unterstützt ihre Lehre von der Histogenese der Lymphocyten in den Exsudaten mit der experimentellen Gewebezüchtung. Nach Gräwitz' Behauptung entstehen die Rundzellen im Entzündungsgewebe nicht hämatogen, sondern lokal durch Umwandlung normaler Gewebselemente. Er nahm deswegen Gewebefragment aus der Herzklappe, die bekanntlich bei den Säugetieren keine Gefäßversorgung hat. Er sah aus Bindegewebezellen Rundzellen entstehen. Rhoda Erdmann studierte ebenfalls die Entstehung der Rundzellen und beobachtete ähnliche Umwandlungen. Er bestätigte dadurch die Gräwitz'sche Lehre.

Tuberculose.

Der Tuberkelentstehung suchte man ebenfalls mit Hilfe der Gewebezüchtung näherzukommen. Es wurden interessante Beobachtungen gemacht, die mehrere Forscher bestätigten. — Setzt man zu einer Gewebekultur Tuberkelbazillen, so findet eine Zellwanderung statt, und nach

einiger Zeit sind die Bazillen von Zellelementen umgeben, die von den Bazillenhaufen im Sinne des Chemotropismus angelockt werden. Die Zellen sind hochgradig phagocytär und verschlingen in kurzer Zeit die Bakterien. Auch Riesenzellen werden beobachtet, die nach Webster durch Verschmelzen von großen mononucleären Zellen oder durch Mitose entstehen. Bisceglie will die Entstehung der Langhans'schen Riesenzellen durch Fusion mehrerer normaler Zellen, und zwar der Histozyten erklären. Timofejewsk und Benevolenskaja züchteten Fragmente von Lunge und Milz und setzten Tuberkelbazillen hinzu. Um die Bakterien entstanden Zellbildungen, die in ihrem Bau und Bestand den normalen im Organismus entstandenen epithelialen Tuberkeln sehr ähnlich waren. Im Zentrum des so entstandenen Tuberkels, wo die Bakterien sehr zahlreich waren, wurden die Zellen nekrotisch. Die Zellarten zeigen verschieden starke Resistenz gegen die Bakterien. Die gekörnten Zellen sind garnicht widerstandsfähig, und im Kampf zwischen Tuberkelbazillen und gekörnten Zellen bleiben erstere stets Sieger. Nach drei bis vier Tagen sind in der Kultur nur kernlose Zellen zu finden, die Phagozyten sind regelmäßig verteilt. Die Tuberkelbazillen kommen nicht mehr frei vor, sondern nur im Protoplasma der phagozythären Zellen. Daraus ersehen wir, daß die nichtkörnigen Leukocyten gegen die Tuberkelbazillen eine große Resistenz besitzen; sie haben sogar die Fähigkeit, die Bakterien zu zerstören. Wir dürfen auch annehmen, daß im Kampf des Organismus gegen eine Tuberkulose die letztgenannten Zellformen eine große Rolle spielen.

Die Immunitätsforschung.

Die experimentelle Gewebezüchtung wurde für die Immunitätsforschung von großer Wichtigkeit. Die Ergebnisse zeigen uns, daß das Gewebe durch Antitoxine sich

immunisieren läßt und dadurch gegen toxische Giftwirkung refraktär bleibt. Levaditi und Muttermilch haben kurative und präventive Behandlung mittels antidiphterischen Serums versucht. Aus ihren Beobachtungen geht hervor, daß das Gewebe, das vorher mit Toxin vergiftet wurde, mittels Antitoxin geheilt werden konnte. Die Giftwirkung ist proportional der Konzentration und der Wirkungszeit. Die Toxine und Antitoxine sind nach den allgemeinen Vorstellungen im Organismus im Zirkulationssystem vorhanden und neutralisieren dort einander. In vitro werden die Toxine wie die Antitoxine von dem Gewebe aufgenommen, und die Immunität ist an die Gewebezellen gebunden. Die Immunität ist vererbbar; die Subkulturen der mit Antitoxin behandelten Kulturen bewahren weiterhin ihre Immunität. — Man machte Versuche mit Cobragift. Die Gewebe zeigten eine hochgradige Empfindlichkeit dagegen. Schon eine zehnmillionenfache Verdünnung beeinflußt die Wachstumsintensität schwach negativ; eine tausendfache Verdünnung zeigt eine vollkommene Giftwirkung. Das Fragment kann mit Antigiftserum geheilt werden, wenn die Konzentration des Giftes nicht zu stark ist und das Gift nicht länger als zwanzig Minuten einwirkt. Durch Antigiftserum kann man dem Gewebe eine ziemlich hohe Resistenz gegen Gift verleihen.

Die Kultur des filtrablen Virus.

Mit der Entwicklung der Technik und der Vervollkommnung des Mikroskopes ist es gelungen, das Wesen der Krankheitserreger zum größten Teil zu erkennen und ihr biologisches und pathologisches Wirken zu beobachten Es gibt noch eine Gruppe Krankheitserreger, die man mikroskopisch nicht feststellen konnte, auf deren Existenz man nur von ihrer Wirkung schloß. Diese Gruppe bilden die invisiblen Virusarten. Wie bei vielen anderen Problemen versuchte man auch hier die Lösung der Virusfrage

auf dem Gebiet der experimentellen Gewebezüchtung. Die großen Hoffnungen, die die Forscher hegten, schienen sich anfangs nicht zu erfüllen, denn die ersten Ergebnisse waren nicht befriedigend. Es gelang mehreren Forschern, das Virus kurze Zeit in vitro am Leben zu erhalten, doch konnten sie es nicht in neue Kulturen übertragen. So wurde von Steinhardt und Lambert das Verhalten der Negrischen Körperchen studiert, doch ließen sich die Körperchen nicht weiter züchten. Später versuchten dieselben Forscher das Wesen des Pockenerregers durch die experimentelle Gewebezüchtung zu erforschen. Hierbei kamen sie schon einen Schritt weiter; es gelang ihnen, die Guarnierischen Körperchen außerhalb des Organismus einige Wochen lang am Leben zu erhalten. Nach ihren Beobachtungen vermehrten sich während dieser Zeit die Erreger aktiv und verloren ihre Virulenz nicht.

Gracium und Oppenheimer beschäftigten sich mit der Züchtung des Pockenerregers. Sie züchteteten im Dunkelfeld die als Granula nachweisbaren aktiven Faktoren der Pocken in Gewebekulturen. Sie setzten ihr durch Zentrifugieren erhaltenes Forschungsmaterial Gewebekulturen zu und beobachteten durch Überimpfen auf Kaninchen, daß die Virulenz des Erregers nicht geschwächt wurde, sondern sogar mit der Zeit und durch die Passagen noch gesteigert wurde.

Lavaditi studierte das Wesen des Poliomyelitisvirus. Er bediente sich der Erfahrungen Marinesco's und Mineas, daß die Poliomyelitiserreger in den Spinalganglien der Vertebraten lange Zeit nachweisbar sind, und verwendete für diesen Zweck Spinalganglien poliomyelitiskranker Affen, die im Plasma gesunder Affen gezüchtet wurden. Er hielt das Virus einige Tage lang am Leben. Die Virulenz blieb nach mehreren Passagen ungeschwächt. Er beobachtete das Erscheinen mehrkerniger Leukozyten, die das Fragment umgaben. Diese Leuko-

cyten stammten angeblich von den Entzündungsherden, die vom Virus im interstitiellen Gewebe der Spinalganglien hervorgerufen wurden. Levaditi sah auch spindelförmige Zellen und nach mehreren Passagen mitotische Zellteilung der Bindegewebekapsel. — Nach diesen Beobachtungen ist es klar, daß die Erreger der Poliomyelitis außerhalb des Organismus in Anwesenheit von lebendigen Zellen in vitro zu züchten sind, wobei eine aktive Vermehrung stattfindet. Levaditi äußert die Vermutung, daß zwischen den Erregern und den Zellen eine Symbiose herrscht; an dieser Symbiose sind nicht die Nervenzellen, da diese in Kulturen absterben, sondern das Bindegewebe beteiligt.

Levaditi suchte auch die Wuterreger zu züchten. Er nahm zu diesem Zweck die Spinalganglien infizierter Affen. Die nach fünf Passagen verimpften Kulturen riefen bei Kaninchen die typische Erkrankung hervor. Die Krankheit trat nach 10—11 tägiger Inkubationszeit sehr heftig auf.

Erdmann züchtete die Erreger der Hühnerpest. Er konnte keine Vermehrung des Virus beobachten, sondern die Virulenz nahm langsam ab. Durch Impfen mit diesen abgeschwächten Kulturen erzielte der Forscher eine passive Immunisierung, die ungefähr neun Wochen anhielt und durch aktive Immunisierung noch gesteigert werden konnte.

Kuczynski beschäftigte sich mit der Frage des Fleckfiebererregers. Er behauptet, daß die Proteusstämme mit den X-Stämmen nahe verwandt seien und die Rickettsia keine selbständige Gattung sei, sondern eine Form von Proteus. Er stellte mittels komplizierter Verfahren Kulturen her, wo er rote Körperchen beobachtete, die der Rickettsia Prowaceki der Kleiderläuse sehr ähnlich waren. Durch Einimpfung dieser Kulturen entstand beim Tier das typische Krankheitsbild. Es gelang ihm,

von diesen Tieren wiederum neue Kulturen zu gewinnen.

Wollbach und Schlesinger versuchten des Virus des Rocky Mountains spotted fever in Kulturen zu züchten. Beim Einimpfen in gesunde Tiere wiesen sie der Rickettsia Prowaceki gleichende Mikroorganismen nach. Die Erreger lagen intrazellulär. Über das Herpesvirus machten Parker und Neye wichtige Studien. Es gelang ihnen, die Kulturen zehn Passagen hindurch am Leben zu erhalten. Die Virulenzprüfung ergab ein positives Ergebnis. Die Forschungen zeigen uns, daß der Weg für die Erforschung des Wesens des filtrablen Virus vielversprechend ist, und wir können die Hoffnung hegen daß diese wichtigen mikrobiologischen Probleme bald gelöst werden.

Tumorzüchtung.

Der erste Versuch, Tumoren zu züchten, stammt von Volpino, der Mäuseadenocarcinomfragmente explantierte. Ihm gelang es, das Explantat 70 Tage am Leben zu halten. Nach Wiedereinpflanzen des Explantates in Mäuse entstand eine mit dem primären Tumor identische Geschwulst. Eine große Zahl von Arbeiten erschien in den letzten Jahren von japanischen und amerikanischen Forschern. Sowohl Carrel und Burrows, wie auch Lambert und Hannes haben eine Wanderung der Sarkomzellen im Koagulum durch aktive Bewegung beobachtet. Die direkte mikroskopische Untersuchung dieser Mobilität läßt annehmen, daß die aktiven Bewegungen unabhängig von dem passiven Transport durch die Blutbahn und Lymphbahn erfolgen, und daß die Geschwulstzellen durch diese Beweglichkeit im ganzen Organismus zerstreut werden. Nach den Berechnungen dieser Autoren kann eine Tumorzelle in 14 Tagen den Weg zurücklegen, der das Zentrum des Körpers mit der Achselhöhle verbindet. Versuche mit Sarkom wurden in erster Linie von Carrel, Fischer und Juhász-Schäfer unternommen. In

diesen Kulturen beobachtet man das Entstehen von zwei Zelltypen. Beide Zellarten, sowohl die Makrophagen, die Rundzellen, wie auch die Fibroblasten, die Spindelzellen, proliferieren sehr aktiv. Die Makrophagen bilden kein Gewebe. Sie zeigen die Fähigkeit, das Kulturplasma zu verflüssigen und besitzen phagozytären Charakter. Eine wichtige Eigenschaft der Neoplasmakulturen ist die Fähigkeit, sich zu vermehren, auch wenn nur eine einzige Zelle verpflanzt wird; während Normalgewebe eine bestimmte Zahl von im Syncitium zusammenhängenden Zellen braucht, um in vitro proliferieren zu können. Die maligne Wucherung der Sarkomzellen konnte man auch in vitro beobachten. Sarkomzellen wurden in die Nähe eines Muskelfragmentes gebracht. Die Sarkomzellen überfielen das Muskelgewebe, und in kurzer Zeit war es von Sarkomzellen überwuchert. — Trotz der vielen experimentellen Arbeiten ist das Problem der Tumorgenese noch nicht endgültig gelöst. Die Ansichten der verschiedenen Forscher gehen in vielem auseinander, doch stimmen sie in folgendem überein: Die bösartige Umwandlung der Zellen wird durch verschiedene Agentien hervorgerufen. Diese wirken störend auf den Zellmetabolismus, und der zerstörte Zellmetabolismus verursacht die Umwandlung normaler Zellen in bösartige Tumoren.

Zusammenfassung.

Wir sehen, daß die Gewebezüchtung für die medizinische Wissenschaft von großer Bedeutung geworden ist. Carrel, Fischer, Ebeling und Levis stellten fest, daß die isolierten Zellen nicht nur weiterleben, proliferieren, sondern auch ihre spezifische Funktion und ihren spezifischen Charakter bewahren, Differenzierungs- und Entdifferenzierungsprozesse durchmachen können. Strangeways versuchte die Struktur des Protoplasmas durch seine experimentellen Beobachtungen zu erklären; und wenn ihm dies

auch nicht restlos gelang, so sind seine Beobachtungen und Publikationen doch sehr wichtig. Hanes und Lambert beschäftigten sich mit dem Problem der Mitose und machten auf diesem Gebiet wertvolle Entdeckungen. Mc. Junkin's Beobachtungen brachten große Fortschritte auf dem so heiß umstrittenen Gebiet der Histogenese der Blutzellen. Levaditi und Krontowsky konnten die Ergebnisse der experimentellen Gewebezüchtung auf dem Gebiet der Immunitätsforschung sehr gut verwerten. Wichtig sind die Forschungsergebnisse Joanowics's und Verattis auf dem Gebiet der Tumorgenese, besonders der Krebsforschung. Die experimentelle Gewebezüchtung zeigte neue Wege für die Erforschung physiologischer und pathologischer Grundprobleme, und die Ergebnisse dieser Forschungen spielen eine große Rolle in der modernen Pathologie. — Endgültige Kritik dürfen wir uns noch nicht erlauben, da die Forschungen keineswegs abgeschlossen sind; doch müssen wir die ungeheure Wichtigkeit der bisher fast nur den Forschern bekannten neuen Forschungsmethoden anerkennen, und wir dürfen hoffen, nach der Beseitigung der technischen Schwierigkeiten und nach Vervollkommnung dieser neuen Wissenschaft noch manches bisher unlösbare Problem lösen zu können.

Literaturverzeichnis.

V. Bisceglie und Juchász-Schäfer: Die Gewebezüchtung in vitro. Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere. Julius Springer Berlin 1928.

Burrows M. F.: Rhythmische Kontraktionen der isolierten Herzmuskelzelle außerhalb des Organismus. Münchener med. Wochenschrift 59. Jahrg.

Carrel A. Cultures pures de fibroblastes provenant de sarcomes fusocellulaires. Cpt rent. des séances de la Société de biol. Bd. 12. 1910.

Carrel A.: Les Milieux nutritifs et leur mode d' emploi dans la culture des tissus. Comptes rendus hébdomadaires des Sciences et Mémoires de la Société de Biologie 1927, Bd. 1.

Craciun: Plasmas stabilisés pour cultures de tissu. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1927, Bd. 96.

Juhàsz-Schäfer: Versuchsergebnisse über Wachstumspolarität der Gewebezüchtungen in vitro. Biologie gen. 1927.

Karczag L. und Nemeth: Die Methode der Elektropie und die Probleme der künstlichen Gewebezüchtung. Arch. f. exp. Zellforschung 1927, Bd. 3.

Marinesco G. et Minea: La culture des ganglions spinaux de mammifères in vitro. Contribution à l' étude de la neurogénèse. Rev. neurol. Bd. 22, 1927.

Nasu S.: Beiträge zu Überlebensfähigkeit der Gewebe. (Eine Untersuchung über die Veränderung an Zellen, die von der normalen Zirkulation abgeschnitten sind.) Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und klinische Medizin.

Zum Schluß der Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem verehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Prof. Dr. C. Hirsch, für seine Anregung und liebenswürdige Unterstützung meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich, Hans Baumgartner, wurde am 19. IV. 1902, als Sohn des Landwirtes Anton Baumgartner und seiner Ehefrau Maria geb. Gosner in Foeni-Fina, Kom. Sathmar (Rumänien) geboren.

Nach der Volksschule besuchte ich das Gymnasium in Sathmar, wo ich 1922 mein Abitur bestand. Danach studierte ich 6 Semester Medizin an der Universität Szeghedin. Im Jahre 1925 bestand ich dort mein ärztliches Vorexamen. Im Frühjahr 1926 kam ich nach Deutschland. Zuerst studierte ich in Marburg a/Lahn, dann an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, wo ich am 26. Februar 1929 das Staatsexamen bestand.